

# LIHAVUUDEN VAIKUTUS RINTASYÖVÄN ENNUSTETEKIJÖIHIN

*Eliisa Uljas*  
Opinnäytetyö  
Lääketieteen koulutusohjelma  
Itä-Suomen yliopisto  
Terveystieteiden tiedekunta  
Lääketieteenlaitos / Syöpätaudit  
Joulukuu 2013

ITÄ-SUOMEN YLIOPISTO, Terveystieteiden tiedekunta  
Lääketieteen laitos  
Lääketieteen koulutusohjelma  
ULJAS ELIISA: Lihavuuden vaikutus rintasyövän ennustetekijöihin  
Opinnäytetyö, 29 sivua  
Opinnäytetyön ohjaajat: LT Päivi Auvinen, Dos Kirsi Rilla  
Joulukuu 2013

---

Avainsanat: rintasyöpä, lihavuus, HER2-onkogeeni, TNM-luokitus, gradus, residivi, kuolema, hyaluronaani, premenopausaali-ikä, postmenopausaali-ikä

Rintasyöpä on naisten yleisin syöpä niin Suomessa kuin muualla maailmassa. Naisilla uusista syövästä noin 33 % on rintasyöpää, ja lähes joka kymmenes nainen Suomessa sairastuu elämänsä aikana rintasyöpään. Sen esiintyvyys alkaa lisääntyä 45-ikävuoden jälkeen, ja keskimääräinen sairastumisikä on 60-vuotiaana. Varhaisemman diagnosoinnin ja hoitojen parantumisen myötä elinaika ennuste on parantunut. Kymmenen vuoden jälkeen sairastuneista 76 % on elossa. Duktaalinen ja lobulaarinen syöpä ovat rintasyövän yleisimpiä muotoja.

Tässä opinnäytetyössä käsitellään pituus-painosuhteen eli BMI:n vaikutusta pre- ja postmenopausaalisilla naisilla rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin. Ennusteellisina tekijöinä käsitellään HER2-onkogeenin monistumaa, kasvaimen histologista erilaistumisastetta ja TNM-luokkaa. Lisäksi tutkimme hyalurononin (HA) määrää kasvaimen stroomassa, solunpinnalla ja solulimassa sekä kuoleminen ja residivien esiintyvyyttä. HA on assosioitu viimeaikaisissa tutkimuksissa kliinisesti huonompaan ennusteeseen. Kasvain, jonka stroomassa HA pitoisuus on korkea, on usein huonosti erilaistunut ja metastasoi helpommin. Aineisto koostui Kuopion yliopistollisessa sairaalassa vuosina 2002–2008 hoidetuista rintasyöpäpotilaista (N = 278). Tietoja vertailtiin kahden BMI-luokan välillä: alle 30 kg / m<sup>2</sup> ja 30 kg / m<sup>2</sup> tai yli. Tiedot kerättiin sairaskertomuksista ja analysoitiin SPSS-ohjelmalla.

Tutkimuksessa todettiin, että lihavilla premenopausaalisilla naisilla tässä aineistossa on lisääntynyt riski residivien esiintymiseen. Sen sijaan tässä aineistossa premenopausaalisilla naisilla ei ilmennyt korrelaatiota BMI:n ja HER2-monistuman, histologisen erilaistumisasteen, TNM-luokituksen tai kuolemien esiintyvyyden välillä. Postmenopausaalisten tutkittavien keskuudessa ei ollut osoitettavissa korrelaatiota BMI:n ja tutkittujen rintasyövän ennustetekijöiden välillä. Sen sijaan kaikilla lihavilla tutkittavilla sekä pre- että postmenopausaalisissa HA:n määrä oli suurempi sekä stroomassa, solulimassa ja syöpäsolukasvaimen pinnassa.

UNIVERSITY OF EASTERN FINLAND, Faculty of Health Sciences  
School of medicine  
Medicine  
ULJAS, ELIISA: Breast cancer prognostic factors and Obesity  
Thesis, 26 pages  
Tutors: Päivi Auvinen, MD, Kirsi Rilla, docent  
December 2013

---

Keywords: breast cancer, obesity, HER2 oncogene amplification, TNM staging, grade, residivation, death, hyaluronate, premenopausal age, postmenopausal age

Breast cancer is the most common cancer among women in Finland and elsewhere in world. Thirty-three percent of all new cancer cases for women are breast cancer. Almost one in ten women contract breast cancer during their lifetime in Finland. After 45 years of age, there is an increase in the breast cancer incidence rate in women. The average age for breast cancer diagnosis is 60 years of age. Life expectancies have increased because of earlier diagnosis and better treatments. Seventy-six percent survive ten years after the diagnosis. Ductal and lobular carcinoma are the most common types of breast cancer.

This thesis discusses the height-weight relationship, or the effect of BMI to breast cancer prognostic factors of pre- and postmenopausal age. This thesis discusses prognostic factors with HER2 oncogene amplification, tumor histological differentiation, TNM staging. In addition, it examines hyaluronate (HA) staining in breast cancer cells stroma, cell surface and in the cytoplasm and residivations and death rate. HA has been associated in recent studies with a clinically worse prognosis. Tumors with high HA concentration in stroma is often poorly differentiated cancer and metastasizes easier. The research material consists of breast cancer patients who have been treated in the Kuopio University hospital during 2002–2008 (N=278). The results compared two different BMI cohorts; BMI less than 30 kg / m<sup>2</sup> and BMI 30 kg / m<sup>2</sup> or more. The data has been collected from medical reports and have been analysed by SPSS program.

The research found that obese premenopausal women have an increased risk to residivation. This material did not found any correlations between obesity and HER2 oncogene amplification, histological differentiation, TNM staging or death in premenopausal women. This research did not find any correlation between obesity and breast cancer prognostic factor in a cohort of postmenopausal women. In contrast both cohorts of obesity pre- and postmenopausal women had a higher HA concentration in the stroma, cell surface and in the cytoplasm.

## SISÄLTÖ

1 JOHDANTO .....	5
2 KIRJALLISUUSKATSAUS .....	6
2.1 Rintasyövän esiintyvyys ja ennuste.....	6
2.2 Ennusteen luokittelu.....	7
2.2.1 pTNM-luokka.....	7
2.2.2 Histologinen erilaistuminen .....	8
2.2.3 HER2-onkogeeni.....	9
2.2.4 HER2-onkogeeni esiintyminen rintasyövässä.....	10
2.2.5 Hyaluronaani.....	10
2.3 Riskitekijät.....	11
3 TUTKIMUS.....	13
3.1 Aineisto ja menetelmät.....	13
3.2 Tulokset BMI:n yhteydestä rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin .....	13
3.2.1 HER2-monistuma .....	13
3.2.2 Reseptoristatus .....	14
3.2.3 Tuumorin koko.....	15
3.2.4 Imusolmukestatus.....	16
3.2.5 Gradus.....	16
3.2.6 Residiivien esiintyvyys .....	18
3.2.7 Kuolema.....	19
3.28 Hyalyronaanin esiintyvyys.....	19
4 POHDINTA.....	22
LÄHTEET .....	25

## 1 JOHDANTO

Rintasyöpä on naisilla yleisin syöpä niin Suomessa kuin muualla maailmassa. Naisten uusista syöpätapauksista noin 33 % on rintasyöpää. Miehillä rintasyöpä on harvinainen. Rintasyövän ennuste on parantunut hoitojen ja diagnostiikan kehittymisen myötä. Rintasyövän merkittävimmät ennusteelliset tekijät ovat nykytietämyksen mukaan tuumorin koko, metastasointi lähialueen imusolmukkeisiin tai muualle, kasvaimen histologinen erilaistumisaste, kasvaimen hormonireseptoristatus ja HER2- reseptorin monistuma.

Tämä opinnäytetyö on kirjallisuuskatsaus rintasyöpään ja sen kliinisesti merkittävimpiin ennusteellisiin tekijöihin. Tässä opinnäytetyössä tutkittiin pituus-painosuhteen eli BMI:n vaikutusta pre- ja postmenopausaalisilla naisilla rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin. Lisäksi tutkittiin hyalurononin eli HA:n määrää kasvaimen stroomassa, solun pinnalla ja solulimassa. HA on assosioitu viimeaikaisissa tutkimuksissa kliinisesti huonompaan ennusteeseen. Kasvain, jonka stroomassa HA pitoisuus on korkea, on usein huonosti erilaistunut ja metastasoi helpommin. Aineisto koostuu Kuopion yliopistollisessa sairaalassa 2002–2008 operoiduista rintasyöpäpotilaista (N = 278). Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää BMI:n yhteyttä rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin, HA:n määrään, residiivien esiintyvyyteen ja kuolleisuuteen.

Lihavuuden suhdetta rintasyöpään on tutkittu paljon. Lihavuuden on todettu lisäävän riskiä sairastua huonommin erilaistuneeseen rintasyöpää, lisäävän tuumorin kokoa, metastasointia ja huonontavan rintasyöpäpotilaan ennustetta. Lisäksi lihavuuden on todettu vaikuttavan rintasyövän hormonireseptoristatukseen. Täysin ei olla vielä pystytty selvittämään, miten lihavuus vaikuttaa rintasyövän syntyyn. Arvellaan, että rasvakudoksen tuottamalla estrogeenilla ja hyperinsulinemialla voisi olla vaikutusta kasvaimen syntyä ja erilaistumiseen.

## 2 KIRJALLISUUSKATSAUS

### 2.1 RINTASYÖVÄN ESIINTYVYYS JA ENNUSTE

Rintasyöpä on naisten yleisin syöpämuoto niin Suomessa kuin muualla maailmassa. Epidemiologisesti rintasyövän esiintyvyys on suurin läntisessä Euroopassa, Pohjois-Amerikassa ja Australiassa. Pienemmän riski alueita ovat Saharan eteläpuolinen Afrikka, Kaakkois-Aasia ja Japani. Suomen syöpärekisterin tilastojen mukaan vuonna 2010 naisten uusista syövistä 32,7 % oli rintasyöpätapauksia. Määrällisesti vuonna 2007–2011 diagnosoitiin 4 508 tapausta. Miehillä vain 0,1 % uusista diagnosoiduista syövistä oli rintasyöpää eli lukumäärällisesti noin 15 tapausta vuodessa. Rintasyöpä naisilla on jatkuvasti yleistynyt, ja arviolta 10 % naisista sairastuu elämänsä aikana rintasyöpään. Rintasyövän ilmaantuvuus alkaa lisääntyä 45. ikävuoden jälkeen, mutta rintasyöpää tavataan myös alle 30-vuotiailla. Rintasyöpä diagnoosin saamisen keski-ikä on 60-vuotta (Suomen syöpärekisteri 2013).

Rintasyövän sairastumiseen vaikuttavia tekijöitä tiedetään olevan useita (Joensuu, Aalberg 2007). Perintötekijöillä arvioidaan olevan osuutta noin 5–10 %:ssa syöpätapauksista. Kasvainrajoitegeneisissä BRCA1 ja BRCA2 esiintyvän mutaation tiedetään lisäävän huomattavasti riskiä sairastua rintasyöpään. Lisäksi mutatoitunut p53 ja DNA-vaurion tunnistamiseen ja korjaamiseen osallistuva CHEK2-geenin mutaatio selittävät osan suvuittain esiintyvistä rintasyövistä (Mäkinen, Alafuzoff 2012). Myös hormonaalisten tekijöiden tiedetään vaikuttavat sairastumisriskiin. Rintarauhasen altistumisaikaa estrogeenin vaikutukselle pidetään tärkeimpänä hormonaalisena riskitekijänä. Altistumisaikaan vaikuttaa häiriintymättömien kuukautiskiertojen kokonaismäärä (synnyttämättömät naiset, alhainen menarke-ikä ja korkea vaihdevuosi-ikä), samoin kuin yli viiden vuoden estrogeeni- ja progesteronikorvaushoito vaihdevuosien yhteydessä. Sairastumisriskiä pienentäviä tekijöitä ovat muun muassa imetys, liikunta ja runsaasti vihanneksia sisältävä ruokavalio (Mäkinen, Alafuzoff 2012, Joensuu, Aalberg 2007).

Rintasyövän yleisimmät päätyypit ovat duktaalinen ja lobulaarinen karsinomaan (Joensuu, Aalberg 2007). Duktaalista karsinoomaa on noin 70 % rinnan syövistä. Duktaalisisessa invasiivisessa karsinoomassa atyyppinen solukko esiintyy yleensä ryppäinä tai rauhasrakenteita muodostavana solukkona rintarauhasen sidekudoksen ja rasvan lomassa (Mäkinen, Alafuzoff 2012). Rintasyövistä 5–20 % on lobulaarista karsinoomaa (Mäkinen, Alafuzoff 2012, Joensuu, Aalberg 2007). Invasiivisessa lobulaarisessa rintasyövässä kasvainsolukko kasvaa tyypillisesti solujonoina (”indian file”) kehämäisesti tiehyeen ympärillä (Mäkinen, Alafuzoff 2012). Loput rintasyövistä ovat niin

sanottuja erikoistyyppisiä, joita ovat muun muassa papillaarinen, medullaarinen, musinootin ja tubulaarinen karsinoma (Joensuu, Aalberg 2007).

Duktaalinen in situ -karsinoma (DCIS) on rintarauhistiehyiden sisäisen atyyppisen solukon proliferaatio, joka ei lävistä tyvikalvoa. In situ -karsinomia esiintyy usein myös invasiiviseen karsinoman yhteydessä. Lobulaarisessa in situ -karsinomassa (LCIS) lobulusten tyvikalvon sisäpuolella kasvaa atyyppinen pienikokoinen solukko. Lobulukset ovat usein laajentuneita. LCIS on usein bilateraali. Joka neljäs nainen, jolta LCIS on diagnosoitu, sairastuu 25 vuoden kuluessa rintasyöpään (Mäkinen, Alafuzoff 2012).

Rintasyövän ennuste on hyvä. Huolimatta esiintyvyyden lisääntymisestä, kuolleisuus ei ole lisääntynyt. Viiden vuoden jälkeen 86 % sairastuneista on elossa ja kymmenen vuoden jälkeen sairastuneista 76 % on elossa. Ennusteen paranemista selitetään hoitomenetelmien ja diagnostiikan kehittymisellä (Suomen syöpärekisteri 2013).

## 2.2 ENNUSTEEN LUOKITTELU

Rintasyövän ennusteeseen ja hoitoon vaikuttavina tekijöinä tulee huomioida kasvaimen invasiivisuus, kasvaimen koko, kasvaimen histologinen tyyppi ja erilaistuminen, solujen jakautumisnopeus, invasoituminen verisuoniin ja imuteihin, estrogeeni- ja progesteronireseptorien määrän esiintyminen kasvain solukossa, HER2-geeni monistuma sekä metastaasien esiintyminen (Mäkinen, Alafuzoff 2012, Joensuu, Aalberg 2007).

### 2.2.1 PTNM-LUOKKA

pTNM-luokitus sisältää tiedot tuumorin koosta, kasvainsolukkoa sisältävistä lähialueen imusolmukkeiden määrästä ja etäpesäkkeiden määrästä lähialueen imusolmukkeiden ulkopuolelle (Singletary et al. 2002).

pT (patologisesti vahvistettu primaari kasvain) kuvaa primaarikasvaimen kokoa. pT-luokituksessa arvon pT1 saa luokituksessa kasvain, jonka suurin läpimitta on enimmillään 20 mm. Arvon pT2 saa suurimmalta läpimitalta 21–50 mm välissä oleva kasvain. pT3-luokan kasvaimia ovat yli 50 mm:n kasvaimet. Mikäli kasvain kasvaa iholle tai rintaontelon seinämään, kylkiluihin tai kylkivälilihaksiin kyseessä on luokan pT4-kasvain (Singletary et al. 2002).

Metastasointia lähialueen imusolmukkeisiin kuvaa N-kirjain (nodus). Metastasoinnin oletetaan tapahtuvan ensisijaisesti vartijaimusolmukkeisiin. Vartijaimusolmuke on ensimmäinen imusolmuke, jonne imuneste kasvaimen lähettyviltä virtaa. Vartijaimusolmukkeita voi olla yksi tai useampi. Niitä voi esiintyä saman käden kainalossa, sen ulkopuolella tai parasternaalisesti (Leidenius 2004). Vartijaimusolmukkeet paikannetaan rintakudokseen ruiskutetun sinisen merkki-

aineen (Vital Patent Blue) avulla lymfoskintigrafialla tai manuaalisesti etsimällä leikkauksen yhteydessä. Vartijaimusolmukkeesta mahdollinen metastasointi tutkitaan histologisesti. Mikäli tuumorikudosta ei löydy, muidenkin imusolmukkeiden voidaan melko luotettavasti olettaa olevan terveitä. Mikäli metastasointia löytyy, alueen muutkin imusolmukkeet tulee yleensä poistaa. N-luokan on osoitettu olevan suoraan verrannollinen syövän uusiutumisriskiin ja rintasyöpäkuoleman vaaraan (Rubio et al. 1998, Chagpar, Camp & Rimm 2011). Vuosina 2006–2010 rintasyöpään sairastuneista 33,8 %:lla diagnosointi hetkellä oli tauti metastasoinut lähialueen imusolmukkeisiin (Suomen syöpärekisteri ).

N1-luokan taudissa metastasointia on löydettävissä yhdestä kolmeen lähialueen imusolmukkeesta. N2-luokan taudissa metastasointia löytyy neljästä yhdeksään imusolmukkeesta. N3-luokan taudissa metastasointia löydetään kymmenestä tai useammasta imusolmukkeesta (Singletary et al. 2002).

Lähialueen imusolmukkeiden ulkopuolella olevien etäpesäkkeiden esiintymistä kuvaa M-luokka. M-luokka on jaettu kahteen ryhmään. M0-luokka tarkoittaa, ettei metastasointia lähialueen imusolmukkeiden ulkopuolella ole todettavissa. M1-luokassa metastasointia löytyy lähialueen imusolmukkeiden ulkopuolelta. Levinneisyys selvitykset tehdään potilaille, joilla syövän leviämisaara on kohtalainen tai suuri. Rintasyövän diagnoosihetkellä metastasointia muihin elimiin on tapahtunut 8,7 %:lla. Tavallisimpia ovat luustometastaasit, mutta myös ihossa, keuhkoissa, pleurassa, maksassa ja aivoissa tavataan metastaaseja. Tavallisimpia levinneisyystutkimuksia ovat isotooppikuvantaminen ja vartalon tietokonetomografia. Suomessa levinneisyystutkimukset tehdään potilaille, joilla on todettu 4 tai useampia positiivisia imusolmukkeita (= N2-tauti) tai jos potilaalla on oireita tai poikkeavia löydöksiä laboratoriotutkimuksissa (Joensuu, Aalberg 2007).

### 2.2.2 HISTOLOGINEN ERILAISTUMINEN

Rintasyövän invasiivisen kasvainkudoksen morfologian avulla määritetään kasvaimesta histologinen erilaistumisaste eli gradus. Scarff-Bloom-Richardsonin luokituksen mukaan kasvain jaetaan kolmeen luokkaan tubulusrakenteiden muodostumisen, tuma-atypian ja mitoosien määrän avulla. Kasvainkudoksen pinta-alasta arvioidaan tubulusmuodostuman määrä. Yhden pisteen saa, kun tubulusmuodostumaa on yli 75 % kudoksesta. Kaksi pistettä, kun 10–75 % kudoksesta sisältää tubulusmuodostumaa. Kolme pistettä saa kun tubulusmuodostumaa esiintyy alle 10 % pinta-alasta (Elston, Ellis 2002).

Tuma-atypia pisteytetään yhdestä kolmeen tuman koon ja muodon mukaan. Yhden pisteen tuma-atypiaissa tumat muistuttavat normaalia rinnan epitelialaista solukkoa. Tuman koko saattaa olla hieman suurempi, mutta tumien muoto on hyvin yhtäläinen. Kahden pisteen tuma-atypiaissa tumat



ovat tavallista suurempia. Niiden koossa ja muodossa on kohtalaista vaihtelevuutta. Kolmen pisteen tuma-atypiassa tumien muodossa ja koossa on ilmiselvää vaihtelevuutta. Erityisesti hyvin isot ja omituisen muotoiset tumat kuuluvat tähän ryhmään (Elston, Ellis 2002).

Mitoosien luokittelussa tulee huomioida vain tumat, joissa on selvästi havaittavissa metafaasinen, anafaasinen tai telofaasinen vaihe. Pisteet annetaan 0,274 neliömillimetrin alueelta mitoosien lukumäärän mukaan. Yhden pisteen saa, kun mitooseja alueella on 0–9 kappaletta. Kaksi pistettä, kun mitooseja on 10–19 kappaletta ja kolme pistettä, kun niitä on yli kaksikymmentä (Elston, Ellis 2002).

Gradus-luokitus annetaan edellä kuvatuista yhteenlasketuista pisteistä. Kun yhteenlasketut pisteet ovat yhdestä viiteen, on kyseessä Gradus 1 -luokan kasvain. Gradus 1 -luokan kasvainkudos on histologisesti hyvin erilaistunutta. Pisteet kuudesta seitsemään kuvaavat kohtalaisesti erilaistunutta kasvainkudosta ja luokituksessa saa arvon Gradus 2. Kun kasvainkudos on huonosti erilaistunut, tulee yhteenlaskettuja pisteitä kahdeksasta yhdeksään ja Gradus-luokituksessa Gradus 3. Erilaistumisaste kertoo melko luotettavasti potilaan ennusteen taudin suhteen. Gradus 1 viittaa hyvään ennusteeseen, kun taas Gradus 3 viittaa huonoon ennusteeseen (Elston, Ellis 2002, Mäkinen, Alafuzoff 2012).

### 2.2.3 HER2-ONKOGEENI

Yksi yleisimmistä rintasyöpään liittyvistä onkogeneista on HER2 / neu eli humaanin epidermaalinen kasvutekijä reseptori kaksi, jota kutsutaan myös ERBB2 :ksi. HER2-geeni sijaitsee kromosomissa numero 17. Se kuuluu solukalvon tyrosiinkinasaasireseptoriperheeseen, johon kuuluu kolme muuta sukulaistransmembraanireseptoria [HER1(EGFR), HER3, HER4] (Gutierrez, Schiff 2011, Mukai 2010). Reseptorit sijaitsevat solukalvolla, ja niissä on sekä solunulkoinen että solunsisäinen osa. HER1-, HER3- ja HER4-reseptorin tiedetään sitovan transformoivaa kasvutekijää (TGF $\alpha$ ), epidermaalista kasvutekijää (EGF) ja heregulineja. Kun taas HER2-reseptorin ei tiedetä sitovan spesifisesti mitään luonnollista ligandia (Mukai 2010). Aktivoituessa HER2-reseptori sitoutuu itsensä tai toisen HER-perheeseen kuuluvan reseptorin kanssa (Joensuu, Aalberg 2007). Ligandi sitoutuu reseptorin ekstrasellulaariseen osaan ja saa aikaan reseptorin dimerisaation ja transfosforylaation proteiinin intrasellulaarisessa osassa, mistä seuraa signaalireittien aktivoituminen (Joensuu, Aalberg 2007, Gutierrez, Schiff 2011). Reitin aktivoituminen aktivoi transkriptiotekijöitä, jotka säätelevät solun proliferaatioon, apoptoosiin, erilaistumiseen, angiogeneesiin ja invasoitumiseen vaikuttavia geenejä. HER2-heterodimerisaatio eli sitoutuminen itsensä kanssa saa aikaan voimakkaimman signaalireittien aktivaation (Gutierrez, Schiff 2011).

#### 2.2.4 HER2-ONKOGEENI ESIINTYMINEN RINTASYÖVÄSSÄ

HER2-reseptori on monistunut 15–20 %:ssa rintasyövistä, mutta myös munasarja- ja mahalaakunsiöyissä on tavattu monistumaa. HER2-monistumalla on osoitettu olevan korrelaatio potilaiden huonompaan ennusteeseen (Arribas et al. 2011, Burrell et al. 2010). HER2-geenin monistuma johtaa HER2-kinaasin yliekspressioon kasvaimessa. Yli-ilmentyminen voidaan määrittää immunohistokemiallisella värjäyksellä tai CISH (kromogen in situ -hybridisaatio) -testillä.

HER2:sta, jossa solunulkoinen osa on poikkeava, kutsutaan p95:ksi. Tällaista poikkeamaa tavataan myös rintasyövässä. p95 voi aiheuttaa trastutsumabi-resistenttiyttä. Trastutsumabi on vasta-aine, joka sitoutuu HER2-resptoriin. Trastutsumabi on ensimmäinen kliiniseen käyttöön otettu vasta-aine HER2-positiivisen rintasyövän hoidossa. p95-muodossa HER2-proteiinista puuttuu se ulkoinen osa, johon trastutsumabi sitoutuu. Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että p95HER2 toimii biomarkkerina aggressiivisessa rintasyövässä. Esiintymä huonontaa potilaan ennustetta entisestään (Arribas et al. 2011, Gutierrez, Schiff 2011, Mukai 2010).

#### 2.2.5 HYALURONAANI

Hyaluronaani HA on polysakkaridi, jota esiintyy soluvälitiloissa lähes kaikkialla elimistössämme. Erityisen paljon HA:ta esiintyy fysiologisesti sikiön kehityksen aikana ja kudosten parantuessa. HA:n tehtävä on muun muassa lisätä solujen välissä olevaa tilaa ja näin helpottaa solujen liikkumista ja jakautumista. Näin ollen sitä tarvitaan erityisesti nopeasti kasvavissa ja uudistuvissa kudoksissa. HA:n tiedetään lisäksi vaikuttavan migraatioon ja solun viestinvälitykseen. HA-syntaasi (HAS 1–3) syntetisoi HA:ta solukalvolla. HA voi kiinnittyä solukalvoilla esiintyviin reseptoreihinsa, joista tunnetuimpia ovat CD44- ja RHAMM-reseptorit (Toole, Wight & Tammi 2002, Sironen et al. 2011, Auvinen et al. 2013).

HA liittyy myös erilaisten kasvaimien biologiaan ja sitä kertyy kasvaimen stroomaan. Kasvaimessa HA muovaa solujen sisäisten reittien aktivaatiota, solujen liikkuvuutta ja jakaantumista. Lisäksi HA:n on todettu lisäävän kasvainsolujen invaasiokykyä. Strooman korkean HA-pitoisuuden on osoitettu liittyvän huonosti erilaistuneisiin kasvaimiin ja metastasoinnin lisääntymiseen (Toole, Wight & Tammi 2002, Sironen et al. 2011).

HA:n toimintaa, jakautumista ja metaboliaa ja niiden yhteyttä useisiin sairauksiin on tutkittu. HA:n tiedetään vaikuttavan muun muassa sydän- ja verisuonisairauksiin, immunologisiin ja tulehduksellisiin sairauksiin sekä useisiin syöpäsairauksiin (Toole, Wight & Tammi 2002). Korkean verensokeritason on osoitettu stimuloivan HA-synteesiä (Sainio et al. 2010). Hypertrofisen

rasvakudoksen on osoitettu myös lisäävän HA:n määrää (Han et al. 2007). Tämän takia tässä tutkimuksessa pyrittiin selvittämään, onko tässä aineistossa BMI:llä yhteyttä HA:n määrään kasvaimen stroomassa, solulimassa tai kasvaimen pinnalla.

### 2.3 RISKITEKIJÄT

Rintasyövän riskitekijöitä tiedetään monia. Merkittävimpinä riskitekijöinä nykytietämyksen mukaan pidetään perintötekijöitä, mastopatiaa, in situ -karsinoomaa, hormonaalisia tekijöitä, sädehoitoa rintojen alueelle sekä elämäntapoja, kuten tupakointia, alkoholin liikakäyttöä ja ylipainoa (Mäkinen, Alafuzoff 2012). Työssäni käsittelen lihavuuden vaikutusta tässä aineistossa rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin: syöpäkasvaimen kokoon, gradukseen, hormoni- ja HER2-reseptorien esiintymiseen, HA:n määrään, metastasointiin, residivien esiintymiseen ja kuolleisuuteen.

Lihavuudella tarkoitetaan rasvakudoksen ylimäärää. Rasvakudoksen määrää voidaan arvioida painoindeksin (BMI, body mass index) ja vyötärön ympäryksen avulla. Painoindeksi pyrkii kuvaamaan painon ja pituuden suhdetta toisiinsa. Viiterajat ovat sopimuksenvaraiset, eikä painoindeksin avulla pystytä erottamaan esimerkiksi poikkeavan suurta lihasmassaa tai turvotuksia suuresta rasvaylimäärästä. Normaalipaino on määritetty indeksialueelle, jossa sairastuvuus ja kuolleisuus on pienin. Normaaliksi painoindeksiksi luokitellaan BMI 18,5–25 kg / m<sup>2</sup>, sen alapuolelle laskeva BMI luokitellaan alipainoksi. Ylipainoksi luokitellaan BMI yli 25 kg / m<sup>2</sup> ja lihavuudeksi BMI yli 30 kg / m<sup>2</sup>. Vyötärön ympärysmitta kuvaa sisäelimiin ja vatsanonteloon kertynyttä rasvaa. Mittaukset tukevat toisiaan, mutta luotettavaan lihavuuden toteamiseen tarvitaan lisäksi kliininen tutkimus (Terveysportti 2012).

Finriski-tutkimuksen mukaan vuonna 2007 Suomessa oli yli kaksi miljoonaa ylipainoista ihmistä (BMI yli 25 kg / m<sup>2</sup>) ja 650 000 lihavaksi luokiteltavaa ihmistä (BMI yli 30 kg / m<sup>2</sup>). Suomalaisista 25–74-vuotiaista naisista 57 %:lla painoindeksi ylitti 25 kg / m<sup>2</sup> ja 23 %:lla painoindeksi ylitti 30 kg / m<sup>2</sup>. Lihavuuden on osoitettu lisäävän sairastumisriskiä useaan eri sairauteen ja oireyhtymään. Sairastumisriski kasvaa sitä mukaan, mitä suuremmasta ylipainosta on kyse (Peltonen M, Harald K, Männistö S ym. 2008).

Ylipainon (BMI yli 25 kg / m<sup>2</sup>) ja lihavuuden (BMI yli 30 kg / m<sup>2</sup>) on osoitettu olevan postmenopausaalisten naisten rintasyövän riskitekijä. Riskin on osoitettu lisääntyvän BMI:n suurentuessa (Guh et al. 2009, Harris et al. 2011) ja erityisesti keskivartalolihavilla postmenopausaalisilla naisilla (Harvie, Hooper & Howell 2003). Korkea BMI on osoitettu lisäävän postmenopausaalisilla naisilla riskiä sairastua estrogeenireseptori (ER+) ja progesteronireseptori

(PR+) -positiivisiin rintasyöpiin. Premenopausaalisilla naisilla korkean BMI:n on tutkimuksissa osoitettu vähentävän riskiä sairastua reseptoriposiitivisiin (ER+/PR+) syöpiin. On myös tutkimuksista, joissa yhteyttä reseptoriposiitiivisen rintasyövän ja ylipainon välillä ei ole pystytty osoittamaan (Suzuki et al. 2009). Uskotaan, että ylimääräinen rasvakudos saa aikaan androsteenidionin (androgeenin) aromatisoitumisen perifeerisessä rasvakudoksessa ja täten nostaa estrogeenitasoa. Erityisesti riskin on osoitettu kasvavan postmenopausalista hormonikorvaushoitoa käyttävien obeesien naisten keskuudessa (Key et al. 2003, Brooks et al. 2012). Premenopausi ikäisillä ylipainoisilla naisilla ei ole todettu olevan lisääntyntä rintasyöpäriskiä (Brooks et al. 2012). Lihavuuden ja näin ollen korkean BMI:n tiedetään aiheuttavan epäsäännöllistä kuukautiskiertoa ja munasolun irtoamattomuutta. Näiden uskotaan olevan suojaavia tekijöitä premenopausi ikäisillä naisilla, joilla on korkean BMI (Key et al. 2003, Brooks et al. 2012).

Ravitsemuksellisesti korkealla rasvan saannilla, erityisesti tyydyttyneillä ja eläinperäisillä rasvoilla, on osassa tutkimuksissa löydetty yhteys lisääntyneeseen rintasyövän riskiin. Rasvan saannin uskotaan lisäävän endogeenisiä estrogeenitasoja ja sitä kautta nostavan rintasyövän riskiä. Ravinnosta saatavien hiilihydraattien korkealla määrällä ei ole pystytty osoittamaan selvää vaikutusta rintasyövän sairastumisriskiin (Michels et al. 2007). Hyperinsulinemia ja insuliini resistenttiyden epäillään kuitenkin vaikuttavan rintasyövän syntyyn, koska insuliini on itsessään mitogeeninen eli solujen jakautumista lisäävä aine (Key et al. 2003).

### 3 TUTKIMUS

#### 3.1 AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksen tarkoituksena on selvittää lihavuuden vaikutus rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin tässä tutkimusaineistossa. Tavoitteena on verrata aineiston tuloksia aiempiin vastaaviin tutkimustuloksiin. Materiaali koostu 278 rintasyöpäpotilaasta, joilta on leikattu rintasyöpä Kuopion yliopistollisessa sairaalassa vuosina 2002–2008.

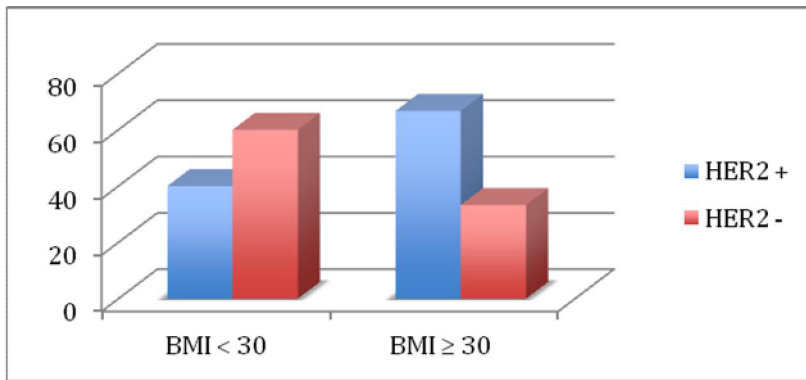
Tiedot kerättiin potilasasiakirjoista ja analysoitiin käyttämällä Microsoftin SPSS-X-ohjelmaa. Tieto potilaan painoindeksistä (BMI) syövän diagnosointihetkellä kerättiin potilasasiakirjoista. Kaikista potilaista oli käytettävissä ennen leikkausta oleva paino. Lisäksi kerättiin tieto tuumorin TNM-luokasta, graduksesta (1–3), HA:n määrästä stroomassa, solulimassa ja solunpinnalla, residiivien esiintymisestä ja mahdollisista kuolemista seurannan aikana.

#### 3.2 TULOKSET BMI:N YHTEYDESTÄ RINTASYÖVÄN ENNUSTEELLISIIN TEKIJÖIHIN

Aineisto koostui 278 potilaasta. Heistä 59 oli premenopausaalisia, 219 tutkittavista oli postmenopausaalisia. Potilaiden seuranta-aika oli keskimäärin 5.5 vuotta. Vaihteluväli 0,4–10,1 vuotta. Tässä tutkimuksessa tutkittiin painon vaikutusta rintasyövän ennusteellisiin tekijöihin. BMI:n suhteen jaoimme tutkittavat kahteen ryhmään: lihavat  $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg} / \text{m}^2$  ja muut  $\text{BMI} < 30 \text{ kg} / \text{m}^2$ .

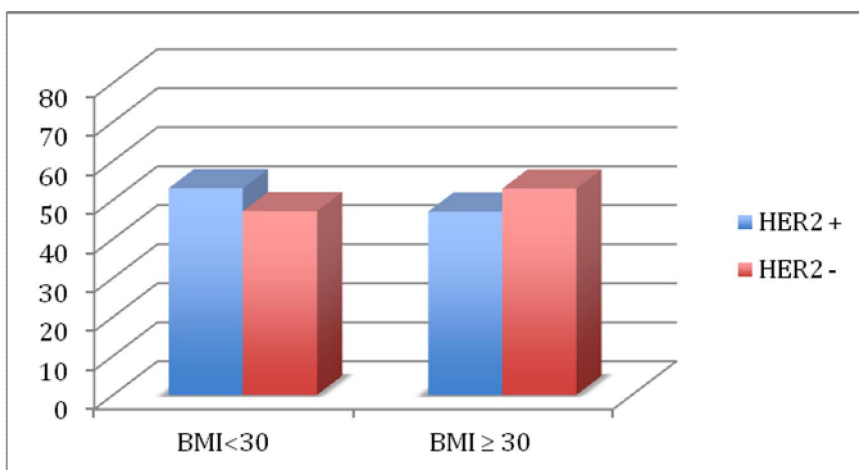
##### 3.2.1 HER2-MONISTUMA

Premenopausaalisista naisista 44,1 %:lla oli HER2-onkogeenin monistuma. Lihavista ( $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg} / \text{m}^2$ ) premenopausaalisista tutkittavista 66,7 %:lla oli todettavissa monistuma ( $p = 0,138$ ). Tutkittavista, joiden BMI oli alle  $30 \text{ kg} / \text{m}^2$ , 40 %:lla kasvaimessa oli histologisessa värjäyksessä todettavissa monistumaa ja 60 %:lla ei. Premenopausaalisilla lihavilla naisilla prosentuaalisesti oli enemmän HER2 geenin monistumaa, mutta tilastollista korrelaatiota ei kuitenkaan ollut osoitettavissa tässä aineistossa. (Kuva 1a)



Kuva 1a. BMI ja HER2-monistuma premenopausaalisilla

Postmenopausaalista kaikista tutkittavista 51,6 %:lla oli todettavissa HER2-monistuma kasvaimessa. Postmenopausaalisista lihavista tutkittavista 47,1 %:lla kasvaimesta oli todettavissa monistuma. Tutkittavista, joiden BMI oli alle 30 kg / m<sup>2</sup>, 53 %:lla oli HER2-monistuma ja 47 %:lla ei ollut. Postmenopausaalisten naisten ryhmässä ei esiintynyt korrelaatiota lihavuuden ja HER2-onkogeenin monistuman välillä. (Kuva 1b)



Kuva 1b. BMI ja HER2-monistuma postmenopausaalisilla

### 3.2.2 RESEPTORISTATUS

Tuumorien estrogeenireseptoristatus premenopausalisten tutkimuspotilaiden välillä oli jakautunut samalla tavalla molemmissa BMI-ryhmissä. Lihavien tutkittavien keskuudessa 80 %:lla oli positiivinen estrogeenireseptoristatus. 70,5 %:lla tutkittavista, joiden BMI on alle 30 kg / m<sup>2</sup>, oli positiivinen estrogeenireseptoristatus (p = 0,453). Tässä aineistossa ei ollut osoitettavissa eroa estrogeeniresptorien esiintyvyyden ja painon suhteen premenopausaalisilla tutkittavilla.

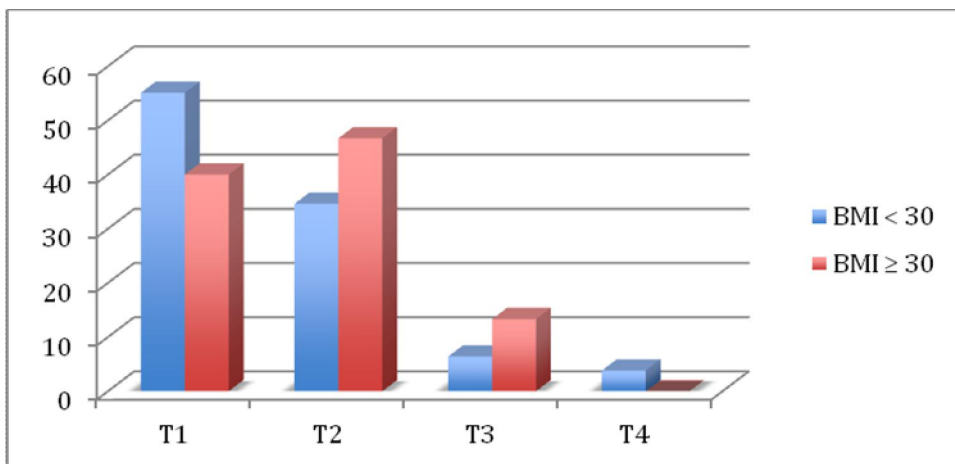
Postmenopausaalisista lihavista tutkittavista 73,3 %:lla oli positiivinen estrogeenistatus kasvaimessa. Tutkittavista, joiden BMI on alle 30 kg / m<sup>2</sup> positiivinen estrogeenireseptori status kasvaimessa oli 69,3 %:lla. BMI:llä ei ollut vaikutusta estrogeenireseptori statukseen (p = 0,605).

Premenopausaalisista tutkimuspotilaista, joiden BMI oli alle 30 kg / m<sup>2</sup> 67,9 %:lla kasvaimen progesteroni reseptori status oli positiivinen. Lihavista tutkimuspotilaista (BMI ≥ 30 kg / m<sup>2</sup>) 77,8 %:lla oli diagnosoitavissa positiivinen progesteronireseptoristatus. Tutkimustulokset osoittavat, että tässä aineistossa premenopausaalisten tutkimuspotilaiden välillä painolla ei ollut vaikutusta progesteronireseptorien esiintyvyyteen.

Postmenopausaalisten tutkittavien keskuudessa progesteronireseptoristatus oli positiivinen 58,4 %:lla. BMI:llä ei ollut vaikutusta progesteronireseptorien esiintyvyyteen. 57,8 %:lla lihavista tutkittavista progesteronireseptoristatus oli positiivinen. Tutkittavista, joilla BMI oli alle 30 kg / m<sup>2</sup> 58,6 %:lla progesteronireseptoristatus oli positiivinen (p = 0,925).

### 3.2.3 TUUMORIN KOKO

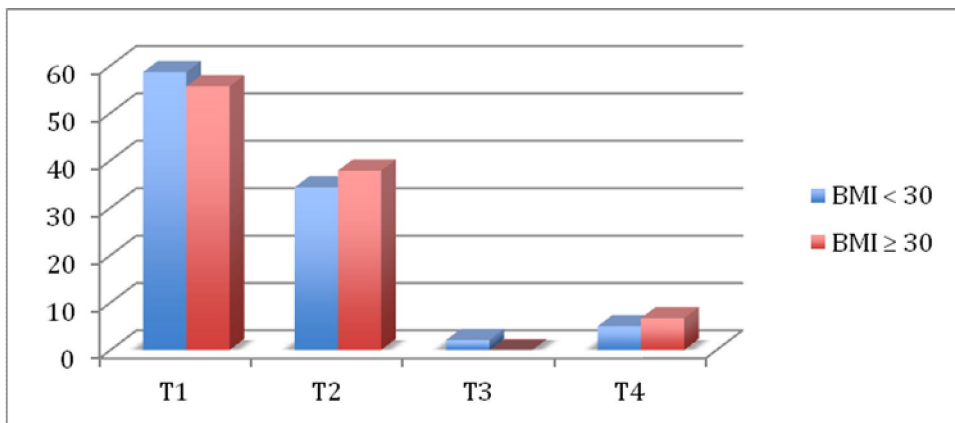
Premenopausaalisista naisista, joiden BMI oli alle 30 kg / m<sup>2</sup> tuumorin koko oli 0–20 mm ( T1 ) 55,1 %:lla tässä ryhmässä. Tuumorin koko oli 21–50 mm (T2) 34,6 %:lla tutkittavista tässä ryhmässä. Tuumorin koko oli yli 51 mm (T3) oli 6,4 %:lla tutkittavista tässä BMI-ryhmässä. Iholle tai rintaontelon seinämään asti kasvava (T4) tuumori oli 3,8 %:lla tässä BMI-ryhmässä. Lihavista premenopausaalisista naisista T1 -luokan kasvain oli 40 %:lla, T2 -luokan kasvain 46,7 %:lla, T3 -luokan kasvain 13,3 %:lla ja T4 -luokan kasvain 0 %:lla (p = 0,489). Tässä aineistossa ei ollut osoitettavissa tuumorin koon ja BMI:n välillä korrelaatiota (Kuva 2a).



Kuva 2a. BMI:n ja tuumorin koko premenopausaalisilla

Postmenopausaalisten naisten välillä ei myöskään ollut eroavaisuutta tuumorin koon ja BMI-ryhmien välillä. BMI alle 30 kg / m<sup>2</sup> ryhmässä T1 -luokan kasvaimia oli 58,6 %:lla, T2 -luokan kasvaimia 34,3 %:lla, T3 -luokan kasvaimia 2,1 %:lla ja T4 -luokan kasvaimia 5,0 %:lla tutkittavista. Postmenopausaalisilla lihavilla, eli BMI 30kg / m<sup>2</sup> tai enemmän ryhmässä tuloksen jakautuivat samankaltaisesti. T1 -luokan kasvaimia oli 55,6 %:lla, T2 -luokan kasvaimia oli 37,8

%:lla, T3 -luokkan kasvaimia oli 0 %:lla ja T4 -luokkan kasvaimia oli 6,7 %:lla tutkittavista ( $p = 0,727$ ) (Kuva 2b).



Kuva 2b. BMI ja tuumorin koko postmenopausaalisilla.

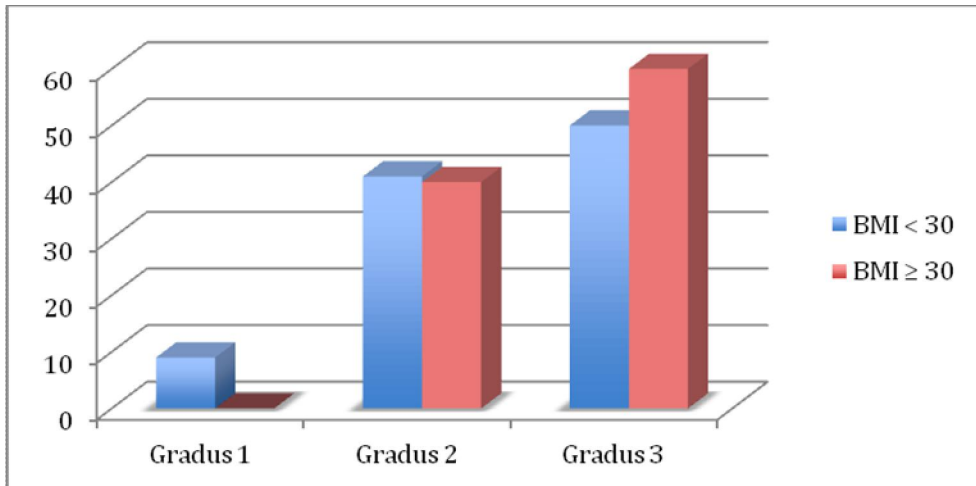
### 3.2.4 IMUSOLMUKESTATUS

Premenopausaalisista, joiden BMI on alle  $30 \text{ kg} / \text{m}^2$ , 73,1 %:lla tauti oli toteamisvaiheessa metastasoinut lähialueen imusolmukkeisiin. Lihavien premenopausalisten tutkittavien keskuudessa 80 %:lla löytyi diagnosointihetkellä imusolmukemetastasointi. Postmenopausaalisista 60 %:lla oli imusolmukemetastasointi diagnosointihetkellä BMI alle  $30 \text{ kg} / \text{m}^2$  -ryhmässä. Lihavien postmenopausalisten tutkittavien keskuudessa 48,9 %:lla oli positiivinen imusolmukestatus taudin diagnosointihetkellä. BMI:n ja imusolmukestatuksen välillä ei ollut osoitettavissa korrelaatiota tässä aineistossa.

### 3.2.5 GRADUS

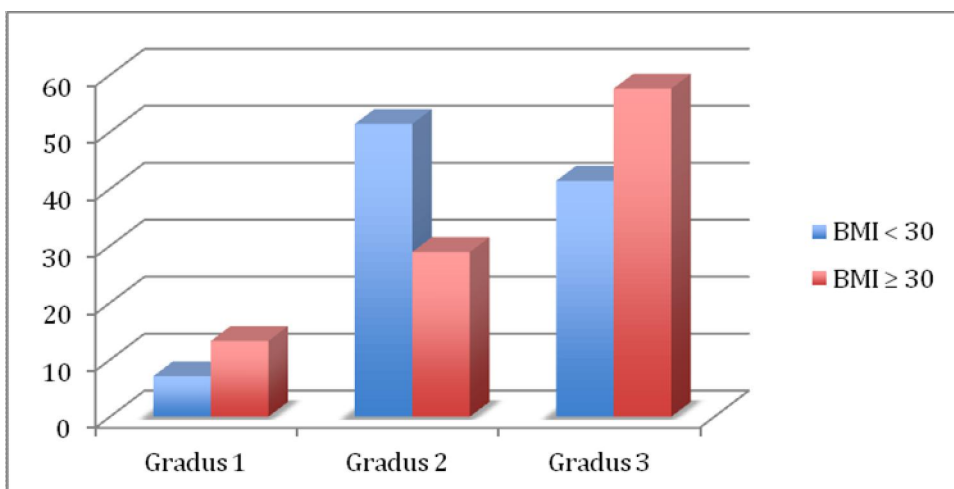
Premenopausaalisten tutkittavien kasvaimen hyvää histologista erilaistumisastetta edustavaa Gradus 1-luokkan kasvaimia ei esiintynyt ollenkaan lihavien tutkittavien keskuudessa. Sen sijaan 2 ja 3 – luokan erilaistumisastetta edustavat kasvaimet jakautuvat tasaisesti molemmissa BMI-luokissa. Tutkittavista, joiden BMI oliin alle  $30 \text{ kg} / \text{m}^2$ , Gradus 1 -luokan kasvaimia oli 9 %:lla, Gradus 2 -luokan kasvaimia oli 41 %:lla ja Gradus 3 -luokan kasvaimia oli 50 %:lla. Lihavien tutkittavien keskuudessa Gradus 1 -luokan kasvaimia oli 0 %:lla, Gradus 2 -luokan kasvaimia oli 40 %:lla ja Gradus 3 -luokan kasvaimia oli 60 %:lla tutkittavista ( $p = 0,451$ ) (Kuva 3a).





Kuva 3a. BMI ja Gradus premenopausaalisilla.

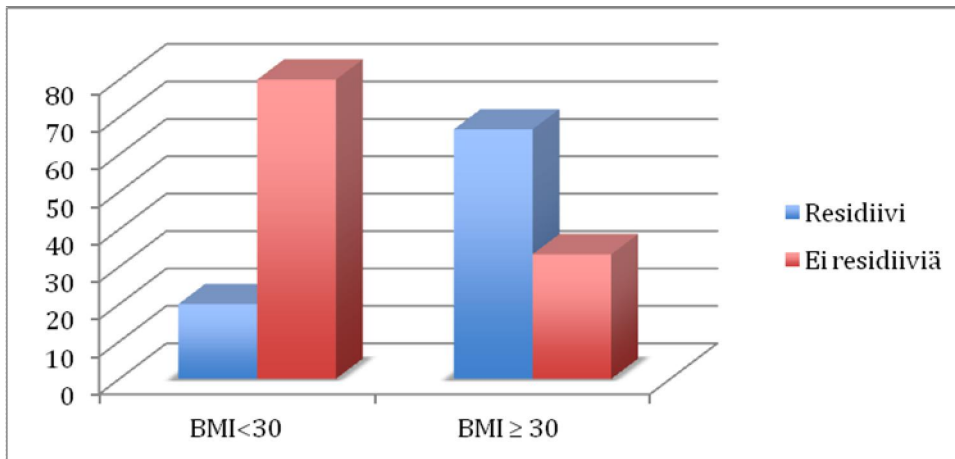
Postmenopausaalisilla tutkittavilla, joiden BMI oli alle  $30 \text{ kg / m}^2$  Gradus 1 -luokan kasvaimia oli 7,1 %:lla tutkittavista. Gradus 2 -luokan kasvaimia oli 51,4 %:lla ja Gradus 3 -luokan kasvaimia oli 41,4 %:lla. Lihavista tutkittavista postmenopausaalisista Gradus 1 -luokan kasvaimia oli tässä ryhmässä suhteessa eniten, eli 13,3 %:lla. Gradus 2 -luokan kasvaimia oli 28,9 %:lla ja Gradus 3 -luokan kasvaimia oli 57,8 %:lla ( $p = 0,26$ ). Pre- tai postmenopausaalisessa ryhmässä ei tullut esiin korrelaatiota BMI ja kasvaimen histologisen erilaistumisasteen välillä (Kuva 3b).



Kuva 3b. BMI ja Gradus postmenopausaalisilla

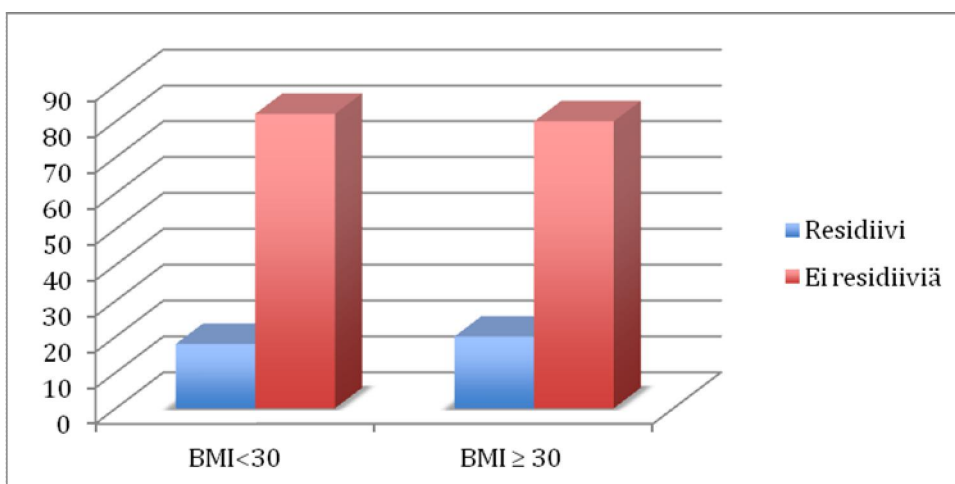
### 3.2.6 RESIDIIVIEN ESIINTYVYYS

Tässä aineistossa potilaiden seuranta aika oli keskimäärin 5,5 vuotta. Vaihteluväli oli 0,4–10,1 vuotta. Premenopausaalisten naisten keskuudessa residiivejä esiintyi BMI-ryhmässä alle 30 kg / m<sup>2</sup> 20,0 %:lla. Vastaavasti lihavien premenopausaalisten keskuudessa tämän seuranta-ajan sisällä esiintyi residiivejä esiintyi 66,7 %:lla (p = 0,006) (Kuva 4a).



Kuva 4a. BMI ja residiivi premenopausaalisilla

Postmenopausaalisten tutkittavien keskuudessa BMI-ryhmässä alle 30 kg / m<sup>2</sup> todettiin taudin residivointi 17,9 %:lla. Lihavilla postmenopausaalisilla naisilla residiivejä esiintyi 20,0 %:lla (p = 0,747). Postmenopausaalisilla tutkittavilla residiivien esiintyminen jakautui tasaisesti ryhmien välillä (Kuva 4b).



Kuva 4b. BMI ja residiivi postmenopausaalisilla

### 3.2.7 KUOLEMA

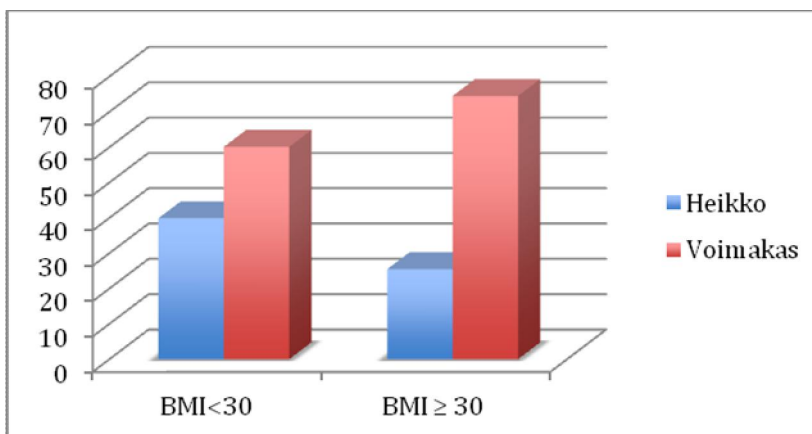
Tässä aineistossa 0,4–10,1 vuoden seuranta-ajan sisällä tutkittavista kuoli 41 tutkittavaa. Kaikista premenopausaalisista tutkittavista (N = 59) seitsemän kuoli (11,9 %) tämän seurannan aikana. BMI ryhmässä alle 30 kg / m<sup>2</sup> olevista premenopausaalisista naisista kuoli seurannan aikana neljä (8,0 %) tutkittavista. Lihavista premenopausaalisista naisista seuranta-ajan sisällä kuoli kolme (33,3 %) tutkittavista. Premenopausaalisten tutkittavien keskuudessa kuolemia esiintyi enemmän lihavien tutkittavien keskuudessa (p = 0,06).

Postmenopausaalisista naisista, joiden BMI oli alle 30 kg / m<sup>2</sup>, seuranta-ajan sisällä kuoli 21 (15 %). Lihavista postmenopausaalisista tutkittavista kuoli kahdeksan (17,8 %) (p = 0,656). Myös postmenopausaalisesten keskuudessa esiintyi suhteessa kuolemia enemmän lihavien tutkittavien keskuudessa. Tulos ei ole kuitenkaan tilastollisesti merkitsevä.

### 3.28 HYALYRONAANIN ESIINTYVYYS

Hyaluronaanin (HA) esiintyvyys jakautui samankaltaisesti pre- ja postmenopausaalisten tutkittavien keskuudessa, minkä vuoksi tässä työssä käsitellään BMI:n ja HA:n korrelaatiota koko aineistossa. Kasvaimen strooman värjäytyminen HA:n suhteen määritettiin HA:ta sitovan bHABC-yhdistelmän avulla. Strooman HA:n värjäytymisen mukaan kasvaimet jaettiin kahteen ryhmään: heikko tai voimakas strooman HA:n värjäytyminen.

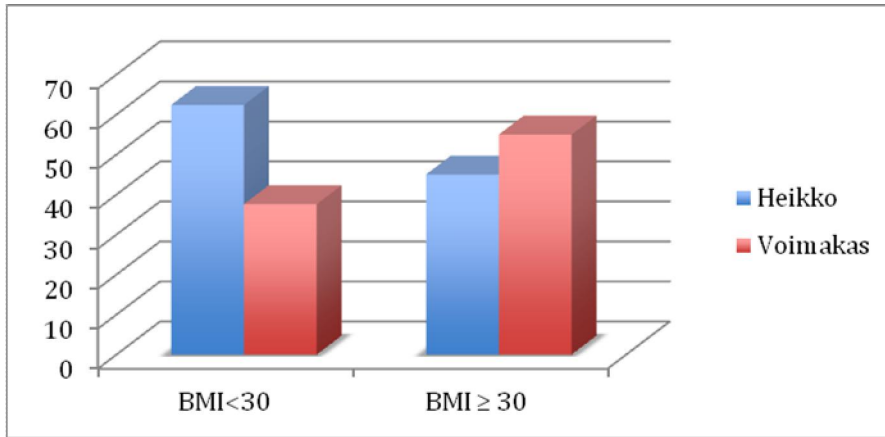
Tutkittavista, joiden BMI on alle 30 kg / m<sup>2</sup> heikko strooman HA:n värjäytyvyys oli 40,4 %:lla ja voimakas strooman värjäytyminen 59,6 %:lla. Lihavista (BMI ≥ 30 kg / m<sup>2</sup>) heikko strooman värjäytyvyys oli 25 %:lla ja voimakas strooman HA:n värjäytyvyys 75 %:lla (p = 0,029) (Kuva 5a).



Kuva 5a. BMI ja strooman HA:n värjäytyminen koko aineistossa

Lisäksi tutkittiin HA:n värjäytymistä kasvaimen syöpäsolun pinnalla ja solulimassa. Heikoksi värjäytymiseksi luokiteltiin HA-positiiviset kasvaimet, joissa värjäytymistä oli 0–50 %:ssa kasvaimen soluista. Kun 51–100 % rintasyövän kasvaimen soluista värjäytyi, puhuttiin

voimakkaasta värjäytymisestä. Koko aineistossa tutkittavista joiden BMI oli alle 30 kg / m<sup>2</sup> heikosti värjäytyi 62,4 % ja voimakkaasti 37,6 %. Lihavien tutkittavien keskuudessa heikkoa värjäytymistä solulimassa tai solun pinnalla oli 45 %:lla ja voimakasta värjäytyvyyttä 55 %:lla. Lihavilla tutkittavilla rintasyövän kasvaimen solulimassa ja solun pinnalla esiintyi enemmän hyaluronaania (p = 0,038). (Kuva 5b).



Kuva 5b. BMI ja HA:n värjäytyvyys solulimassa ja solun pinnalla koko aineistossa

Tässä opinnäytetyössä on käytetty osaa tutkimusmateriaalia, joka on kerätty laajempaa rintasyöpätutkimusta varten. Tutkittavat ovat kerätty siten, että puolet tutkittavista on HER2-onkogeeni positiivisia. Heille on etsitty mahdollisimman samankaltainen verokki, jonka kasvain on HER2-onkogeeni negatiivinen. Tämän takia tässä aineistossa tutkittavat eivät jakaudu tasan painon suhteen. Tutkittavien määrät (N-luku) ja prosentuaaliset osuudet on kerätty taulukkoihin tietojen tarkastelun helpottamiseksi (Taulukko 1a ja 1b).

Taulukko 1a. Premenopausaaliset tutkittavat ja rintasyövän ennusteelliset tekijät

Ennusteellinen tekijä (premenopausaaliset tutkittavat)		
	BMI < 30kg/m <sup>2</sup>	BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>
HER2 +	20 (40 %)	6 (66,7 %)
HER2 -	30 (60 %)	3 (33,3 %)
ER +	55 (70,5 %)	12 (80 %)
ER -	23 (29,5 %)	3 (20 %)
PR +	53 (67,9 %)	10 (66,7 %)
PR -	25 (32,1 %)	5 (33,3 %)
T1	43 (55,1 %)	6 (40 %)
T2	27 (34,6 %)	7 (46,7 %)
T3	5 (6,4 %)	2 (13,3 %)
T4	3 (3,8 %)	0 (0 %)
Gradus 1	7 (9,0 %)	0 (0 %)
Gradus 2	32 (41 %)	6 (40 %)
Gradus 3	39 (50 %)	9 (60 %)
Residiivi	13 (16,7 %)	8 (53,3 %)
Ei residiiviä	65 (83,3 %)	7 (46,7 %)
Kuolema	7 (9 %)	5 (33,3 %)

Taulukko 1b. Postmenopausaaliset ja rintasyövän ennusteelliset tekijät

Ennusteelliset tekijät (postmenopausaaliset tutkittavat)		
	BMI < 30kg/m <sup>2</sup>	BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>
HER2 +	89 (53 %)	24 (47,1 %)
HER2 -	79 (47 %)	27 (52,7 %)
ER +	97 (69,3 %)	33 (73,3 %)
ER -	43 (30,7 %)	12 (26,7 %)
PR+	82 (58,6 %)	26 (57,8 %)
PR -	58 (41,4 %)	19 (42,2 %)
T1	82 (58,6 %)	25 (55,6 %)
T2	48 (34,3 %)	17 (37,8 %)
T3	3 (2,1 %)	0 (0 %)
T4	7 (5,0 %)	3 (6,7 %)
Gradus 1	10 (7,1 %)	6 (13,3 %)
Gradus 2	72 (51,4 %)	13 (28,9 %)
Gradus 3	58 (41,4 %)	26 (57,8 %)
Residiivi	25 (17,9 %)	9 (20,0 %)
Ei residiiviä	115 (82,1 %)	36 (80 %)
Kuolema	21 (15 %)	8 (17,8 %)

#### 4 POHDINTA

Tässä tutkimuksessa selvitettiin pituus-painosuhteen eli BMI:n vaikutusta pre- ja postmenopausaalisilla naisilla rintasyövän kliinisesti merkittävimpiin ennustetekijöihin: HER2-onkogeenin monistumaan, histologiseen erilaistumisasteeseen ja TNM-luokkaan. Lisäksi tutkittiin hyalurononin (HA) määrää kasvaimen stroomassa, solun pinnalla ja solulimassa. HA:n on assosioitu viimeaikaisissa tutkimuksissa kliinisesti huonompaan ennusteeseen (Sironen et al. 2011). Kasvain, jonka stroomassa HA-pitoisuus on korkea, on usein huonosti erilaistunut ja metastasoi helpommin. Aineisto koostui Kuopion yliopistollisessa sairaalassa vuosina 2002–2008 hoidetuista rintasyöpäpotilaista (N = 278). Tietoja vertailtiin kahden eri BMI-ryhmän välillä: BMI alle 30 kg / m<sup>2</sup> ja lihaviksi luokiteltavat BMI 30 kg / m<sup>2</sup> tai yli. Lisäksi selvitimme, onko pre- tai postmenopausaalisten naisten välillä eroa.

Lihavuuden on osoitettu lisäävän riskiä sairastua rintasyöpään postmenopausaalisessa iässä (Baer et al. 2010). Erityisesti painon lisääntyminen postmenopausaali-ikää lähestyttyä on tutkimuksissa osoitettu lisäävän rintasyövän sairastumisriskiä (Kawai et al. 2010). Lisääntynyt riski ajatellaan johtuvan rasvakudoksen tuottamasta estrogeenista, tästä johtuen lihavilla naisilla veren estrogeenitasot ovat korkeat (Potischman et al. 1996). Toisen selittävän tekijän uskotaan olevan hyperinsulinemia insuliinin kasvua lisäävän vaikutuksen takia (Muti et al. 2002). Sen sijaan premenopausaalisessa iässä lihavuuden ei ole osoitettu lisäävän riskiä sairastua rintasyöpään (Harvie, Hooper & Howell 2003, Magnusson et al. 2005, Baer et al. 2010).

Tässä aineistossa tutkittavien keskuudessa ei ollut osoitettavissa tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota BMI:n ja HER2-onkogeenin monistuman välillä. Kuitenkin prosentuaalisesti lihavien tutkittavien keskuudessa oli osoitettavissa enemmän HER2-onkogeenin monistumaa. Vastaavanlaisia tuloksia on saatu myös muissa tutkimuksissa (Biglia et al. 2012, Phipps et al. 2008, Honda et al. 1999). On myös tutkimuksia, joissa lihavuuden osoitettu vähentävän HER2-onkogeenin monistuman esiintyvyyttä kasvaimessa (Haakinson et al. 2012).

Myöskään estrogeeni- ja progesteronireseptorien esiintyvyys kasvaimessa ei korreloinut tutkittavien BMI:hin ei pre- eikä postmenopausaalisessa ryhmässä tässä aineistossa. Sen sijaan meta-analyysissä, jossa selvitettiin kasvaimen hormonistatuksen ja painon keskinäisestä korrelaatioista, on todettu premenopausaalisilla lihavilla naisilla vähentynyt riski estrogeeni- ja progesteronireseptoriposiitiviseen rintasyöpään. Postmenopausaalisilla lihavilla naisilla sen sijaan on lisääntynyt riski sairastua estrogeeni- ja progesteronireseptoriposiitiviseen syöpään. Meta-analyysi osoitti, että 5 kg/m<sup>2</sup> nousu BMI:ssä sai aikaan premenopausaalisilla naisilla 5 % pienemmän riskin tuplapositiiviseen (ER+, PR+) kasvaimeen. Postmenopausaalisilla 5 kg/m<sup>2</sup> nousu BMI:ssä lisäsi tuplapositiiviseen (ER+,PR+) kasvaimeen sairastumisen riskiä 33 % (Suzuki et al.

2009). Tässä tutkimuksessa ei selvitetty lihavuuden kestoja. Pitkäaikainen lihavuus voisi olla yksi selittävä tekijä tutkimuksessa eroavaisuuteen meta-analyysin tuloksiin.

Tässä aineistossa BMI:n ja tuumorin koon välillä ei ollut korrelaatiota. Biglia ym. ovat tutkimuksessaan havainneet korrelaation tuumorin koon ja lihavuuden välillä. Heidän tutkimuksessa lihavilla naisilla tuumorin koko on suurempi kuin normaalipainoisilla tai laihoilla naisilla. Ero oli heidän tutkimuksessa havaittavissa niin pre- kuin postmenopausaalisilla naisilla (Biglia et al. 2012). Tässä aineistossa ei havaittu myöskään korrelaatiota lihavuuden ja imusolmukemetastasoinnin välillä. Lihavuuden ja imusolmukemetastasoinnin korrelaatiosta on saatu samankaltaisia, mutta myös vastakkaisia tuloksia (Maehle, Tretli & Thorsen 2004, Biglia et al. 2012, Newman, Lees & Jenkins 1997). Kasvaimen histologista erilaistumisasteen (gradus) ja painon suhdetta on myös tutkittu aikaisemmin. Lihavuuden on ajateltu lisäävän riskiä kasvaimen huonoon erilaistumisasteeseen (Stark et al. 2010). Tässä aineistossa ei tullut esiin korrelaatiota BMI:n ja histologisen erilaistumisen välillä.

Tässä aineistossa premenopausaalisten tutkittavien keskuudessa residiiivejä esiintyi enemmän lihavien tutkittavien keskuudessa ( $p = 0,006$ ). Premenopausaalisten tutkittavien osuus oli kuitenkin niin määrällisesti pieni, joten tutkimus tulisi toistaa isommalla aineistolla, jotta korrelaation voimakkuus pystyttäisiin luotettavammin osoittamaan. Postmenopausaalisten tutkittavien välillä ei tullut esiin korrelaatiota. Lihavuuden on osoitettu lisäävän riskiä residiiivien esiintymiseen, mutta patofysiologiaa ei ole pystytty täysin selittämään. Lihavuuden vaikutus residiiivien syntyyn uskotaan johtuvan ainakin osittain samoista syistä kuin lihavuuden vaikutukset rintasyövän syntyyn. Mahdollisesti lihavuus luo syövän kasvulle ja leviämislle edullisemmän mikroympäristön. Kim ym. ovat tutkimuksessaan osoittaneet hiirillä, että korkea rasvojen saanti ravitsemuksessa lisää sellaisten proteiinien ekspressiota, jotka lisäävät angiogeneesiä, immuunipuolustuksen solujen infiltraatiota ja myös sytokiiniin esiintymistä (Kim et al. 2011). Lisäksi korkealla verensokeritasolla on osoitettu olevan yhteyttä rintasyövän synnyn ja metastasoinnin kanssa (Contiero et al. 2013).

Voidaan pohtia, johtuuko residiiivien lisääntynyt esiintyvyys lihavuuden aiheuttamista biologisista muutoksista, vai jääkö lihavien hoitoannokset suhteessa pienemmiksi. Lisäksi yksi selittävä tekijä voi olla ongelma saada sädehoidon riittävän suuri annos oikeaan paikkaan. Runsas rasvakudoksen määrä voi vaikeuttaa sädehoidon kohdistamista. Sytostaattien suhteen jatkossa olisi mielenkiintoista selvittää, saako lihavat potilaat suhteessa pienemmät annokset kuin normaalipainoiset ja laihat potilaat. Sytostaattien suhteen usein munuaiset, maksa ja luuydin eivät kestä niin suuria annoksia kuin painoon suhteutettuna potilaan tulisi saada. Seuraavissa

tutkimuksissa olisi mielenkiintoista selvittää potilaiden saamien sytostaatti- ja sädehoitoannokset suhteessa painoon ja residivien esiintymiseen.

Lihavuus on liitetty myös rintasyövän huonontuneeseen ennusteeseen. Rintasyöpäkuolemia esiintyy enemmän lihavilla naisilla sekä pre- että postmenopausaali iässä (Protani, Coory & Martin 2010). Tässä aineistossa kuolemia esiintyi suhteessa enemmän lihavien tutkittavien keskuudessa sekä pre- että postmenopausaalisilla tutkittavilla. Tulos ei ollut kuitenkaan tilastollisesti merkitsevä. Tutkimuksessa, ei otettu huomioon kuolinsyytä eli oliko kyseessä rintasyöpäkuolema vai muu. Lihavuus lisää riskiä sairastua myös useisiin muihin sairauksiin, jotka nostavat myös kuoleman riskiä (Guh et al. 2009).

Kasvaimen runsas HA:n määrä on assosioitu taudin nopeampaan etenemiseen ja aggressiivisiin kasvaintyyppeihin (Sironen et al. 2011). Tässä aineistossa tuli esiin tilastollisesti merkittävä korrelaatio painon ja HA:n määrän lisääntymisessä stroomassa ( $p = 0,029$ ) sekä solunpinnalla että sytoplasmassa ( $p = 0,015$ ). Hyperglykemian on osoitettu stimuloivan HA-synteesiä (Sainio et al. 2010). Sen lisäksi tiedetään, että hypertrofinen rasvakudos lisää HA synteesiä (Han et al. 2007). Lihavilla ihmisillä rasvakudoksen määrä on lisääntynyt, ja heillä tavataan hypertrofista rasvakudosta. Lihavilla ihmisellä myös rasvakudoksessa magrofagien määrä on lisääntynyt. Rasvakudoksen tulehdus aiheuttaa insuliini resistenttiyttä erilaisten proinflammatoristen tekijöiden kautta, kuten TNF- $\alpha$ nan, leukotrieni B $_4$ :n tai monosyyttien kemotaktisen proteiini 1:n. Maksan rasvoittuminen häiritsee insuliinin vaikutusta maksan glukoosin uudismuodostumiseen ja glykogeenisynteesiin ja tätä kautta nostaa verensokeri tasoja. Lihavilla ihmisillä rasvakudosta on ihonalaiskudoksessa kuin myös ektooppisesti (Osborn, Olefsky 2012, Samuel, Shulman 2012). Lihavuuteen liittyy kohonnut riski kohonneisiin verensokereihin. Sen lisäksi tiedetään, että rasvakudoksen määrä on lisääntynyt. Nämä tekijät voisivat ainakin osittain olla selittämässä HA:n määrän lisääntymistä lihavien tutkittavien rintasyöpäkasvaimissa.

Useissa tutkimuksissa oli selvästi osoitettu, että lihavuus lisää sairastuvuutta useisiin sairauksiin. Patofysiologiaa ei ole pystytty selittämään. Tässä aineistossa oli selvästi osoitettavissa yhteys lihavuuden ja HA:n määrään rintasyövän kasvaimen pinnalla, solulimassa ja stroomassa. Sen lisäksi oli osoitettavissa, että residivien esiintyvyys lisääntyi premenopausaalisten lihavien tutkittavien keskuudessa. Tämä aineisto herätti mielenkiinnon tutkia laajemmalla aineistolla residivien ja lihavuuden korrelaatiota premenopausaalisten rintasyöpään sairastuneilla. Lisäksi olisi mielenkiintoista selvittää, onko residivien ilmaantuvuuden lisääntymisen taustalla pienemmät annokset sytostaatti- ja sädehoitoa painoon suhteutettuna.



## LÄHTEET

- Arribas, J., Baselga, J., Pedersen, K. & Parra-Palau, J.L. 2011, "p95HER2 and breast cancer", *Cancer research*, vol. 71, no. 5, pp. 1515-1519.
- Auvinen, P., Tammi, R., Kosma, V.M., Sironen, R., Soini, Y., Mannermaa, A., Tumelius, R., Uljas, E. & Tammi, M. 2013, "Increased hyaluronan content and stromal cell CD44 associate with HER2 positivity and poor prognosis in human breast cancer", *International journal of cancer. Journal international du cancer*, vol. 132, no. 3, pp. 531-539.
- Baer, H.J., Tworoger, S.S., Hankinson, S.E. & Willett, W.C. 2010, "Body fatness at young ages and risk of breast cancer throughout life", *American Journal of Epidemiology*, vol. 171, no. 11, pp. 1183-1194.
- Biglia, N., Peano, E., Sgandurra, P., Moggio, G., Pecchio, S., Maggiorotto, F. & Sismondi, P. 2012, "Body mass index (BMI) and breast cancer: impact on tumor histopatologic features, cancer subtypes and recurrence rate in pre and postmenopausal women", *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, .
- Brooks, J.D., John, E.M., Mellemkjaer, L., Reiner, A.S., Malone, K.E., Lynch, C.F., Figueiredo, J.C., Haile, R.W., Shore, R.E., WECARE Study Collaborative Group, Bernstein, J.L. & Bernstein, L. 2012, "Body mass index and risk of second primary breast cancer: the WECARE Study", *Breast cancer research and treatment*, vol. 131, no. 2, pp. 571-580.
- Burrell, R.A., Juul, N., Johnston, S.R., Reis-Filho, J.S., Szallasi, Z. & Swanton, C. 2010, "Targeting chromosomal instability and tumour heterogeneity in HER2-positive breast cancer", *Journal of cellular biochemistry*, vol. 111, no. 4, pp. 782-790.
- Chagpar, A.B., Camp, R.L. & Rimm, D.L. 2011, "Lymph node ratio should be considered for incorporation into staging for breast cancer", *Annals of surgical oncology*, vol. 18, no. 11, pp. 3143-3148.
- Contiero, P., Berrino, F., Tagliabue, G., Mastroianni, A., Di Mauro, M.G., Fabiano, S., Annulli, M. & Muti, P. 2013, "Fasting blood glucose and long-term prognosis of non-metastatic breast cancer: a cohort study", *Breast cancer research and treatment*, vol. 138, no. 3, pp. 951-959.

- Elston, C.W. & Ellis, I.O. 2002, "Original paper Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up", *Histopathology*, , pp. 154-161.
- Guh, D.P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C.L. & Anis, A.H. 2009, "The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis", *BMC public health*, vol. 9, pp. 88.
- Gutierrez, C. & Schiff, R. 2011, "HER2: biology, detection, and clinical implications", *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 135, no. 1, pp. 55-62.
- Haakinson, D.J., Leeds, S.G., Dueck, A.C., Gray, R.J., Wasif, N., Stucky, C.C., Northfelt, D.W., Apsey, H.A. & Pockaj, B. 2012, "The impact of obesity on breast cancer: a retrospective review", *Annals of surgical oncology*, vol. 19, no. 9, pp. 3012-3018.
- Han, C.Y., Subramanian, S., Chan, C.K., Omer, M., Chiba, T., Wight, T.N. & Chait, A. 2007, "Adipocyte-derived serum amyloid A3 and hyaluronan play a role in monocyte recruitment and adhesion", *Diabetes*, vol. 56, no. 9, pp. 2260-2273.
- Harris, H.R., Tamimi, R.M., Willett, W.C., Hankinson, S.E. & Michels, K.B. 2011, "Body size across the life course, mammographic density, and risk of breast cancer", *American Journal of Epidemiology*, vol. 174, no. 8, pp. 909-918.
- Harvie, M., Hooper, L. & Howell, A.H. 2003, "Central obesity and breast cancer risk: a systematic review", *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, vol. 4, no. 3, pp. 157-173.
- Honda, H., Ohi, Y., Umekita, Y., Takasaki, T., Kuriwaki, K., Ohyabu, I., Yoshioka, T., Yoshida, A., Taguchi, S., Ninomiya, K., Akiba, S., Nomura, S., Sagara, Y. & Yoshida, H. 1999, "Obesity affects expression of progesterone receptors and node metastasis of mammary carcinomas in postmenopausal women without a family history", *Pathology international*, vol. 49, no. 3, pp. 198-202.
- Joensuu, H. & Aalberg, V. 2007, *Syöpätaudit*, 3. p. edn, Duodecim, Helsinki.
- Kawai, M., Minami, Y., Kuriyama, S., Kakizaki, M., Kakugawa, Y., Nishino, Y., Ishida, T., Fukao, A., Tsuji, I. & Ohuchi, N. 2010, "Adiposity, adult weight change and breast cancer risk in

postmenopausal Japanese women: the Miyagi Cohort Study", *British journal of cancer*, vol. 103, no. 9, pp. 1443-1447.

Key, T.J., Appleby, P.N., Reeves, G.K., Roddam, A., Dorgan, J.F., Longcope, C., Stanczyk, F.Z., Stephenson, H.E., Jr, Falk, R.T., Miller, R., Schatzkin, A., Allen, D.S., Fentiman, I.S., Key, T.J., Wang, D.Y., Dowsett, M., Thomas, H.V., Hankinson, S.E., Toniolo, P., Akhmedkhanov, A., Koenig, K., Shore, R.E., Zeleniuch-Jacquotte, A., Berrino, F., Muti, P., Micheli, A., Krogh, V., Sieri, S., Pala, V., Venturelli, E., Secreto, G., Barrett-Connor, E., Laughlin, G.A., Kabuto, M., Akiba, S., Stevens, R.G., Neriishi, K., Land, C.E., Cauley, J.A., Kuller, L.H., Cummings, S.R., Helzlsouer, K.J., Alberg, A.J., Bush, T.L., Comstock, G.W., Gordon, G.B., Miller, S.R., Longcope, C. & Endogenous Hormones Breast Cancer Collaborative Group 2003, "Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women", *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 95, no. 16, pp. 1218-1226.

Kim, E.J., Choi, M.R., Park, H., Kim, M., Hong, J.E., Lee, J.Y., Chun, H.S., Lee, K.W. & Yoon Park, J.H. 2011, "Dietary fat increases solid tumor growth and metastasis of 4T1 murine mammary carcinoma cells and mortality in obesity-resistant BALB/c mice", *Breast cancer research : BCR*, vol. 13, no. 4, pp. R78.

Leidenius, M. 2004, "Suomen lääkirilehti, Rintasyövän leikkaushoito", vol. 13, no. 59, pp. 1381-1385.

Maehle, B.O., Tretli, S. & Thorsen, T. 2004, "The associations of obesity, lymph node status and prognosis in breast cancer patients: dependence on estrogen and progesterone receptor status", *APMIS : Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, vol. 112, no. 6, pp. 349-357.

Magnusson, C.M., Roddam, A.W., Pike, M.C., Chilvers, C., Crossley, B., Hermon, C., McPherson, K., Peto, J., Vessey, M. & Beral, V. 2005, "Body fatness and physical activity at young ages and the risk of breast cancer in premenopausal women", *British journal of cancer*, vol. 93, no. 7, pp. 817-824.

Mäkinen, M. & Alafuzoff, I. 2012, *Patologia, Duodecim*, Helsinki.

Michels, K.B., Mohllajee, A.P., Roset-Bahmanyar, E., Beehler, G.P. & Moysich, K.B. 2007, "Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies", *Cancer*, vol. 109, no. 12 Suppl, pp. 2712-2749.

- Mukai, H. 2010, "Treatment strategy for HER2-positive breast cancer", *International journal of clinical oncology / Japan Society of Clinical Oncology*, vol. 15, no. 4, pp. 335-340.
- Muti, P., Quattrin, T., Grant, B.J., Krogh, V., Micheli, A., Schunemann, H.J., Ram, M., Freudenheim, J.L., Sieri, S., Trevisan, M. & Berrino, F. 2002, "Fasting glucose is a risk factor for breast cancer: a prospective study", *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, vol. 11, no. 11, pp. 1361-1368.
- Newman, S.C., Lees, A.W. & Jenkins, H.J. 1997, "The effect of body mass index and oestrogen receptor level on survival of breast cancer patients", *International journal of epidemiology*, vol. 26, no. 3, pp. 484-490.
- Osborn, O. & Olefsky, J.M. 2012, "The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease", *Nature medicine*, vol. 18, no. 3, pp. 363-374.
- Peltonen M, Harald K, Männistö S ym. 2008, "Kansallinen Finriski 2007 -terveystutkimus Tutkimuksen toteutus ja tulokset.", Helsinki 2008. [www.ktl.fi/julkaisut](http://www.ktl.fi/julkaisut)., vol. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B 34/2008.
- Phipps, A.I., Malone, K.E., Porter, P.L., Daling, J.R. & Li, C.I. 2008, "Body size and risk of luminal, HER2-overexpressing, and triple-negative breast cancer in postmenopausal women", *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, vol. 17, no. 8, pp. 2078-2086.
- Potischman, N., Swanson, C.A., Siiteri, P. & Hoover, R.N. 1996, "Reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status", *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 88, no. 11, pp. 756-758.
- Protani, M., Coory, M. & Martin, J.H. 2010, "Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis", *Breast cancer research and treatment*, vol. 123, no. 3, pp. 627-635.
- Rubio, I.T., Korourian, S., Cowan, C., Krag, D.N., Colvert, M. & Klimberg, V.S. 1998, "Sentinel lymph node biopsy for staging breast cancer", *American Journal of Surgery*, vol. 176, no. 6, pp. 532-537.

- Sainio, A., Jokela, T., Tammi, M.I. & Jarvelainen, H. 2010, "Hyperglycemic conditions modulate connective tissue reorganization by human vascular smooth muscle cells through stimulation of hyaluronan synthesis", *Glycobiology*, vol. 20, no. 9, pp. 1117-1126.
- Samuel, V.T. & Shulman, G.I. 2012, "Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links", *Cell*, vol. 148, no. 5, pp. 852-871.
- Singletary, S.E., Allred, C., Ashley, P., Bassett, L.W., Berry, D., Bland, K.I., Borgen, P.I., Clark, G., Edge, S.B., Hayes, D.F., Hughes, L.L., Hutter, R.V., Morrow, M., Page, D.L., Recht, A., Theriault, R.L., Thor, A., Weaver, D.L., Wieand, H.S. & Greene, F.L. 2002, "Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer", *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, vol. 20, no. 17, pp. 3628-3636.
- Sironen, R.K., Tammi, M., Tammi, R., Auvinen, P.K., Anttila, M. & Kosma, V.M. 2011, "Hyaluronan in human malignancies", *Experimental cell research*, vol. 317, no. 4, pp. 383-391.
- Stark, A., Stahl, M.S., Kirchner, H.L., Krum, S., Prichard, J. & Evans, J. 2010, "Body mass index at the time of diagnosis and the risk of advanced stages and poorly differentiated cancers of the breast: findings from a case-series study", *International journal of obesity (2005)*, vol. 34, no. 9, pp. 1381-1386.
- Suomen syöpärekisteri, 2. 3.9.2013, .
- Suzuki, R., Orsini, N., Saji, S., Key, T.J. & Wolk, A. 2009, "Body weight and incidence of breast cancer defined by estrogen and progesterone receptor status--a meta-analysis", *International journal of cancer. Journal international du cancer*, vol. 124, no. 3, pp. 698-712.
- Toole, B.P., Wight, T.N. & Tammi, M.I. 2002, "Hyaluronan-cell interactions in cancer and vascular disease", *The Journal of biological chemistry*, vol. 277, no. 7, pp. 4593-4596.